

13.血液・安全性研究部

部長 瀨口 功

概 要

血液・安全性研究部はワクチン、血液製剤、及び体外診断薬の品質に関する国家検定・検査および標準品の整備・交付、またこれらの業務に関連した科学的調査・研究を行っている。

検定業務においては、新たな生物学的製剤の需要が高まり、国家検定に関する業務も増大している。このような状況の中、試験の実施、試験法の改良・開発、試験の見直し、検定のあり方についての検討を積極的に行った。平成29年度は帯状疱疹ワクチンの承認前検査を試験担当部として行うとともに、品質の均一性を確認するための試験の実施体制を整えた。また、ヒスタミン加入免疫グロブリンの新規ヒスタミン含量試験法について、液体クロマトグラフ法により定量する新たな試験法をメーカーと協力して確立した。試験の見直しについては、乾燥インフルエンザb型ワクチン(破傷風トキソイド結合体)の国家検定からの異常毒性否定試験の省略の検討を完了した。これまでの試験結果と現在の品質管理状況を多角的に鑑み、一定ロット数の試験実施後の省略は可能との判断に至った。さらに今後の国家検定のあり方として、ワクチンにおいて既に導入が図られている SLP(サマリーロットプロトコール)審査を、血液製剤においても導入を検討する時期に来ていると思われる。国際調和の観点からも、早期にロットリリースにおける製剤の製造工程のレビューを行うべく、血漿分画製剤メーカーと審査の様式案の検討を重ねており、適切な仕組みの構築を目指す。一方、部内においては品質管理業務への業務分担の均てん化について議論している。品質管理試験や SLP 審査をより精度高く着実に実施できるよう、各自の業務負担を見直し、偏りのない適切な業務分担で品質管理業務が遂行できる体制の構築を目指す。

体外診断用医薬品においては、B 型肝炎ウイルス表面抗原キットの承認前検査を担当した。合わせて体外診断用医薬品の承認前検査の効率的な進め方についての検討を行った。

国際協力業務については、生物学的製剤の品質の標準化に関する WHO の専門家会議に出席し、WHO 国際標準品

制定に携わった。関連する活動としては、日本から WHO に HEV 国際参照パネル作製のための感染者由来 HEV 抗体陽性血漿検体を提供した。作製された国際参照パネル候補品は多施設国際共同研究にて評価の予定である。今後も品質管理試験法の改良や試験に用いる標準品、参照品の整備にも積極的に取り組み、試験の精度および信頼性の向上に努める。輸血血液を含む血液製剤の安全性に関する国際的な課題については、WHO の Blood Regulators Network のメンバーとして、課題解決に向け定期的な審議に参加している。

研究業務においては、「感染症」「ワクチン」「血液」の大きな3つのテーマでプロジェクトを進めている。「感染症」においては、血液製剤安全性確保のためのアルボウイルス高感度核酸検査法の開発、日本における血液製剤の副作用サーベイランス体制の確立に関する研究を行っている。この他にも、HTLV-1 感染の疫学、診断、感染予防や関連疾患の発症予防に関する研究を重点的に推進している。また「ワクチン」においては、アジュバント含有ワクチンの安全性評価法の開発、ワクチンの品質向上を目指した品質管理試験法の開発・改良等を行っている。また、アジュバント含有ワクチンの有効性、安全性に関するメカニズム解析を合わせて行っている。こうした当部の研究業務は、日本医療研究開発機構、厚生労働省科学研究費および文部科学省科学研究費等の補助により行われている。

人事の面では、平成29年10月に任期付き研究員の平館裕希先生が東北大農学部助教として転出された。新天地での活躍を期待している。平成30年3月に任期付き研究員の手塚健太先生が研究員(任期無し)として採用された。一方、平成30年3月に非常勤職員の高井麻海子さんが退職された。品質管理及び研究業務において、血液・安全性研究部を支えていただき、たいへん感謝している。

業績

調査・研究

I. 血液製剤のウイルス安全性に関する研究

1. 病原体検出法に関する研究

1) 感染症安全対策体制整備事業

平成 26 年に約 70 年ぶりにデング熱が国内発生し、チクングニア熱、ウエストナイル熱等の世界の一部の地域に発生する新たな感染症の日本国内への移入が益々懸念されるようになった。新たな病原体が移入した場合に迅速に対応できるように備えるため、厚生労働省血液対策課、日本赤十字社と連携し、血液製剤の感染症リスク管理体制の構築を行うとともに、新たなリスクの早期把握と評価を行っている。本年度は、関東地域の平成 29 年夏季以降の献血検体のうち、肝機能検査等で検査落ちとなった血漿の 20 人プール血漿 100 検体（合計 2,000 人分）について、デングウイルス、チクングニアウイルスおよびジカウイルスの核酸検査を実施した。血漿検体において、全てのウイルス核酸が陰性であることを確認した。

[大隈和、手塚健太、倉光球、野島清子、石井美枝子、濱口功]

2) 血液製剤安全性確保のためのチクングニアウイルス・ジカウイルス高感度核酸検査法の開発

血液製剤の安全性確保のため、様々な病原体に対して高感度なスクリーニング検査が実施されており、本邦における血液製剤のこれらの病原体に対する安全性は極めて高く管理されている。しかしながら、近年、本邦において海外からの新たな病原体の輸入例が増加してきており、万一国内に定着した場合の血液製剤の安全性確保のため、優れた特異性および感度を有する核酸検査法を事前に準備しておく必要がある。本年度は、当該事業でこれまでに新規に同定した各ウイルス特異的なオリゴセットを組み合わせ、チクングニアウイルス・ジカウイルスの高感度同時検出系を構築した。本研究で開発した検出系は、各ウイルス個別の検出系と比較して同等以上の感度・特異性を有しており、より利便性の高い手法として期待された。

[大隈和、手塚健太、倉光球、野島清子、田島茂（ウイルス第 1 部）、林昌宏（ウイルス第 1 部）、濱口功]

3) HTLV-1 検査法の標準化

施設毎の HTLV-1 核酸検査（定量 PCR）の測定結果には乖離があることが知られているが、ATL 由来 HTLV-1 感染細胞株の TL-0m1 細胞を用いて HTLV-1 核酸検査の

参照品を作製して配布し、それを用いて施設間差の縮小を可能にした。また HTLV-1 感染診断の確認検査である Western Blot 法には判定保留が多いため、抗体検査 1 次検査陽性者に対して、Western Blot 法と核酸検査法を同時に実施し、核酸検査の有効性について多施設共同研究にて確認した。本核酸検査は、妊婦の Western Blot 法判定保留例に対する検査として保険収載された。推奨検査手順フローに核酸検査法を組込んだ「妊産婦診療における HTLV-1 感染(症)の診断指針」も作成した。また Line immunoassay (LIA 法) を確認検査として追加した「HTLV-1 感染の診断指針」も作成した。
[倉光球、大隈和、濱口功]

4) 輸血血液における HTLV-2 の検出法開発に関する研究

HTLV-1 近縁株の HTLV-2 の国内感染の報告はこれまでほとんどなく、HTLV-2 の感染対策は充実していない。しかしながら海外では HTLV-1 だけでなく HTLV-2 の感染が問題となっている。また近年国内で使用される抗体検査キットが HTLV-1 および HTLV-2 の両方を検出できるようになったことから、HTLV-2 陽性時の確定のための評価系が必要である。そこで HTLV-2 を検出できる qPCR primer 及び probe セットを新規に大規模スクリーニングし、高感度 HTLV-1/2 multiplex 核酸検査法を確立した。また海外から HTLV-2 陽性検体を入手し、臨床検体においても検出系が機能することを確かめた。
[大隈和、倉光球、相良康子（日本赤十字社）、濱口功、倉根一郎（所長）]

5) 血液製剤のウイルス安全性確保を目的とした核酸増幅検査(NAT)のコントロールサーベイ事業

2013-14 年に血液製剤の NAT が新しいマルチプレックス試験法に更新され、NAT ガイドラインと輸血用血液の NAT 感度の改正が行われた。本年度は新しい試験法における HIV-1 NAT の特異性の実態把握を目的として、HIV-1 サブタイプ WHO 国際参照パネルを用いた第 9 回 NAT コントロールサーベイを、輸血用血液スクリーニング施設を対象に実施した。対象 8 施設において HIV-1 サブタイプ A、B、C、D、AE、F、G、AG-GH、N、O 検体を正しく検出できることを確認した。

[松岡佐保子、百瀬暖佳、池辺詠美、濱口功]

6) 国内で使用されている HBs 抗原検査キットに関する性能調査の実施

日本赤十字社の協力のもと、国内で製造承認後販売されている HBV マーカー検査キットの性能調査を実施し、キット間での比較検討を行ってきた。今回 HBV genotype 既知の献血由来検体等を用いた新たな検体を準備した

ため、HBs 抗原検査キットに関する性能調査を実施した。複数の HBs 抗原検査キットを用いて、HBs 抗原陽性検体の希釈系列を測定したところ、陽性率は各キットの感度に応じた結果となった。異なる遺伝子型によるキット間の感度差は明確には認められなかった。

[大隈和、百瀬暖佳、松岡佐保子、出口松夫（大阪大学医学部附属病院）、瀧口功、溝上雅史（国立国際医療研究センター）]

2. 国際・国内標準品整備に関する研究

1) 第2次抗HBs人免疫グロブリン国内標準品制定のための多施設共同測定による力価評価

現行の第1次抗HBs人免疫グロブリン国内標準品(320 IU/vial)の更新のため、国内4カ所の製造所(JB京都工場、JB千歳工場、日本製薬、化血研)、および国立感染症研究所の5施設による共同測定を行った。WHO国際標準品に対する相対力価の幾何平均値より、第2次抗HBs人免疫グロブリン国内標準品の力価を314 IU/vialと定めた。当該標準品は2017年9月より国内向けに交付を開始している。

[百瀬暖佳、松岡佐保子、落合雅樹(品質保証・管理部)、瀧口功]

2) HEV抗体国際参照パネル、HEV抗体国内参照品の作製と評価

WHOが2016年10月ECBS国際会議にて提案したHEV抗体国際参照パネルの候補品の材料として、日本からHEV Genotype 3b感染者由来HEV IgG抗体陽性血漿1検体、HEV Genotype 4c感染者由来HEV IgG抗体陽性血漿2検体、対照抗体陰性献血血漿1検体を提供した。作製されたHEV抗体国際参照パネル候補品は多施設国際共同研究にて評価の予定である。また、提供したGenotype3、4のHEV抗体陽性血漿を用いて国内参照品候補品も同時に作製し評価される予定である。

[松岡佐保子、松林圭二(日本赤十字社)、山口照英(日本薬科大学)、瀧口功]

3) 国内検体を用いたHBV陽性血漿パネルの整備

国立感染症研究所では公衆衛生上特に重要な感染症の検体を集めた血清・血漿パネル(感染症検体パネル)を希望するメーカーに譲渡している。これらの感染症検体パネルは、体外診断薬の製造販売承認申請の際、既存の体外診断薬との相関性に関する資料の作成に利用できる。HBV検出/測定用感染症検体パネルの新規ロットへの更新のため、日本赤十字社より新たに国内献血血液の譲渡を受け、遺伝子型A、B、C、Dより成るHBV陽性30検体の整備を行った。

[百瀬暖佳、松岡佐保子、池辺詠美、加藤孝宣(ウイルス第二部)、瀧口功]

4) HBV陽性感染症検体パネルの評価

新たに整備したHBV検出/測定用の感染症検体パネルの評価のため、陽性検体中のHBVゲノム配列の解析を進めている。解析が終了した検体のうち、preS1領域に欠損のある変異株を2検体、preS2領域に欠損のある変異株を1検体で見出したが、その他のS領域、C領域に特徴的な変異等は認められず、HBs抗原、およびHBV DNA用の体外診断薬の評価用検体として適していると考えられた。

[百瀬暖佳、加藤孝宣(ウイルス第二部)、瀧口功]

5) 体外診断薬の精度管理に係る諸外国の動向調査

欧州においては体外診断薬指令 Directive 98/79/EC において体外診断薬が満たすべき基本的安全性要件等が定められていたが、科学技術の発展に伴い、現状に合った指令への改正の議論が進められてきた。2017年、新たに欧州体外診断用医療機器規則(IVDR) 2017/746 が承認され、5年間の移行期間を付与して5月26日から施行されている。

[百瀬暖佳、瀧口功]

6) ウイルスに関する体外診断薬の国際標準品等の動向

2017年度のWHO ECBSにおいて、第1次CHIKV RNA国際標準品、第3次HAV RNA国際標準品、第4次HIV-1 RNA国際標準品、第1次HHV-6B DNA国際標準品、第1次抗HCMV国際標準品等が制定された。来年度以降には、MERS CoV抗体、MERS Co RNA、HSV DNA、HADV DNA、およびZika抗体の国際標準品、HIV p24抗原国際参照パネルの新規整備、HCV RNA、およびHIV-2 RNA国際標準品の更新、DENV抗体パネルの整備等が計画されている。

[百瀬暖佳、松岡佐保子、瀧口功]

3. 輸血・細胞治療を介する病原体に関する研究

1) 日本における血液製剤の副作用サーベイランス体制の確立に関する研究

輸血製剤による副作用のサーベイランスシステムに、今年度までに約50の医療機関が参加し、全国網羅のシステムの構築に向けての基盤作りを進めている。さらに、医療機関及び日本赤十字社の双方から輸血用血液製剤の使用及び製造の情報を収集し、紐付けするトレーサビリティシステムへの拡充を検討している。本年度は、貯血式自己血輸血の副作用について10医療施設参加の調査を実施し、同種血赤血球輸血の副作用より

発生率が少なく、重篤な副作用も認められないことを確認した。

[松岡佐保子、池辺詠美、濱口功]

2) HTLV-1 水平感染の疫学的検討

献血時検査で陽転化した HTLV-1 水平感染者の病態の進行等のリスク評価のために水平感染者を追跡調査する体制基盤 (HTLV-1 水平感染者登録システム) を倫理指針に準拠し構築した。平成 29 年度からは東京都で HTLV-1 水平感染献血者を対象に、日本赤十字社よりシステム登録に関する案内の送付を開始している。現在、医療機関の HTLV-1 キャリア外来においても登録がすすめられるようにシステムの改良を進めている。また、九州地区において、献血血液を用いた水平感染の実態調査も進めている。

[松岡佐保子、内丸薫(東京大学)、佐竹正博(日本赤十字社)、岩永正子(長崎大学)、相良康子(日本赤十字社)、大隈和、濱口功]

3) 組換え VSV を用いた HTLV-1 感染制御法の開発

HTLV-1 関連疾患の発症予防及び感染制御を目的として、組換え水疱性口内炎ウイルス (VSV) を用いた新規ウイルス療法の実験的開発に取り組んでいる。VSV 粒子表面上に HTLV-1 のレセプター分子 (GLUT1, NRP1, SDC1) を発現させることで、エンベロープタンパク質を発現する HTLV-1 感染細胞を標的化し、VSV 感染の作用により特異的に排除することを試みている。これまで、各レセプター分子の単独発現、または複数の分子を発現する組換え VSV の作製に成功し、実際に HTLV-1 感染細胞を選択的に殺傷することを確認した。また、HTLV-1 感染ヒト化マウスへ組換え VSV を接種することで、生存率の有意な改善を含む、顕著な抗 HTLV-1 効果を個体レベルで示すことに成功した。これらのウイルス療法は新たな HTLV-1 感染制御法として期待される。さらに、本研究で開発した手法を応用し、その他の輸血関連感染症の制御法開発も検討している。

[手塚健太、大隈和、倉光球、池辺詠美、松岡佐保子、濱口功]

4) ヒト化マウスモデルを用いた HTLV-1 感染細胞生体内動態の解析

HTLV-1 感染細胞の生体内での動態解明及び治療薬候補の検討のため、小動物感染モデルの開発を進めている。これまでに重度免疫不全マウスに対してヒト造血幹細胞を移植することで、ヒト血球系をマウス個体内で再現したヒト化マウスの確立に成功している。同ヒト化マウスに HTLV-1 を感染させることで、これまで困

難であった感染細胞の生体内での挙動を実験的に明らかにすることが可能となった。本年度は組織中における感染細胞の発現様式の解明を目的とし、高感度 *in situ* ハイブリダイゼーション法を新規に導入し、基礎的検討に着手した。

[手塚健太、水上拓郎、大隈和、松岡佐保子、濱口功]

5) 次世代 HTLV-1 感染ヒト化マウスモデルの開発

生体内での HTLV-1 感染細胞の制御には HTLV-1 特異的 CTL が重要な役割を演じているものの、従来型のヒト化マウスモデルでは個体内での CTL を含むウイルス特異的免疫応答は限定的であり、感染細胞の増殖制御は極めて困難であった。ヒト化マウス個体内でヒト型免疫応答を誘導するためには、移植するヒト造血幹細胞とレシピエントとなる免疫不全マウスの MHC 分子を一致させる必要がある。本研究では、HLA class I 遺伝子を導入した重度免疫不全マウスに対し一致する HLA A アリルを持つヒト造血幹細胞を移植することで、ヒト型免疫応答を再現する革新的な HTLV-1 感染ヒト化マウスモデルの確立を目的とする。本年度までに HLA A2 遺伝子導入重度免疫不全マウスを導入し、コロニーを形成した。また、造血幹細胞移植後、HTLV-1 を感染させた一部の個体では HLA 拘束性の抗 HTLV-1 ヒト型免疫が誘導されていた。

[手塚健太、大隈和、松岡佐保子、伊藤守(実中研)、濱口功]

6) HIV インテグラーゼ阻害剤による HTLV-1 感染症に対する新規治療法の開発

HTLV-1 感染症に対する新規治療法の開発を目的として HIV インテグラーゼ阻害剤 MK-2048 の抗 HTLV-1 効果を検討した。MK-2048 は、投与により HTLV-1 関連細胞株の増殖を抑制し、小胞体ストレス依存性細胞死のマーカーである CHOP および CHAC1 の発現を上昇させ、カスパーゼの活性化を引き起こすことから、HTLV-1 関連細胞に小胞体ストレス性アポトーシスを誘導することが示唆された。現在 MK-2048 の HTLV-1 キャリア末梢血単核細胞検体に対する効果について検討を進めている。

[池辺詠美、松岡佐保子、手塚健太、倉光球、大隈和、内丸薫(東京大学)、濱口功]

7) HTLV-1 アクセサリータンパク質の構造生物学的研究

HTLV-1 アクセサリータンパク質による感染制御機構を構造生物学的視点から解析を行うため、HTLV-1 アクセサリータンパク質のプレバチルス大量発現系構

築検討を行った。これまでの検討から、プレバチルス分泌発現系を用いたN末端欠失Rex変異体において、可逆的凝集が起こることが示唆されたが、再現性を得ることが出来なかった。今後、同変異体の安定同位体標識を行い、構造情報の取得を試みる。

[谷生道一、濱口功]

8) HTLV-1 Env 蛋白質と受容体相互作用の構造生物学的研究

HTLV-1 Env 蛋白質とそのレセプターの一つであるニューロピリン 1(Nrp1)の分子間相互作用を解明するため、HTLV-1 Env 由来ペプチドとNrp1 b1 ドメインの結合様式をNMR、ITC、GST プルダウン実験で解析した。その結果、HTLV-1 Env 由来ペプチドはNrp1 b1 ドメインの VEGF-A 結合領域に結合していることを明らかにした。本研究から、HTLV-1 Env のC末端領域がNrp1 b1 ドメインの結合に関与していることが新たに示唆された。

[楠英樹、濱口功]

9) HTLV-1 および HIV-1 の感染伝播における細胞膜ナノチューブの機能解明

近年、ナノチューブという遠隔の細胞同士を物理的につなぐ細胞膜由来の突起が同定され、新たな細胞間情報伝達の様式として注目されている。これまでにHTLV-1 および HIV-1 の感染伝播において、cell-to-cell 感染が重要であることが示されてきた。ナノチューブは、細胞同士を直接つなぐ細胞膜由来の突起であるため、これらのウイルスの感染伝播に関与する可能性がある。そこで、培養細胞およびマウスを用いて解析したところ、ナノチューブの形成阻害によってHTLV-1およびHIV-1の感染伝播が抑制されることがわかった。このことから、ナノチューブはこれらのウイルスの新たな感染伝播様式と考えられる。現在、詳細な解析を行なっている。さらに、独自に同定しているナノチューブ阻害剤について、HTLV-1 および HIV-1 の治療薬としての可能性についても解析を進めている。ナノチューブを標的とした薬剤は他に例がなく新たな作用機序であるため、既存の薬剤と併用などが期待される。

[日吉真照、野依修(熊本大)、木村俊介(北海道大)、相良康子(日本赤十字社)、大野博司(理化学研究所)、福田孝一(熊本大)、鈴伸也(熊本大)]

10) B型肝炎ウイルス X蛋白質(HBx)による細胞死制御機構の解明に向けた構造生物学的研究

HBx はアミノ酸 154 残基からなる蛋白質で、Bcl-x_L (抗アポトーシス蛋白質) と相互作用し、細胞死を誘

導することが知られている。これまで、HBx のBH3 様モチーフに着目し、Bcl-x_Lとの相互作用をNMRで解析し、他のBH3 ペプチドと同様にBcl-x_Lの疎水性領域に結合することを明らかにしてきた。また、HBx BH3 様モチーフにある120番目のトリプトファン残基をアラニン、ロイシン、フェニルアラニンに置換した変異体を用いたNMR解析から、このトリプトファン残基がBcl-x_Lの結合に重要である可能性を見出した。

[楠英樹、濱口功]

11) 洗浄血小板製剤の使用および副作用発生低減効果に関する検討

血漿を除去し洗浄置換液に再浮遊して調整される洗浄血小板は、副作用予防に有効とされており、日本赤十字社が2016年9月より洗浄血小板製剤の製造販売を開始した。そこで、販売開始前後1年間の血小板製剤の使用数および副作用発生件数について、27施設の医療機関の協力を得て調査した。全国の約8%のバック数に当たる情報を収集・解析し、販売開始による洗浄血小板使用率の増加と、それに伴う副作用発生率の減少が明らかとなった。また、未洗浄に比べ洗浄血小板では副作用発生率が抑えられ、洗浄血小板の副作用予防効果が再確認された。

[池辺詠美、松岡佐保子、濱口功]

II. 品質管理に関する業務、研究

1. 血液製剤

1) 血液製剤へのサマリーロットプロトコール(SLP)審査制度の導入に向けた検討

血液製剤へのSLP審査制度導入により我が国のロットリリースにおいて、安全性や有効性に関する国家検定に加え、製剤が承認書通りに製造されているかについても確認するシステムが構築され、国民に貢献出来ることが期待される。各社(各工場)1製剤を選択してグロブリン製剤優先7品目を決定し、厚生労働省監理課から発出された血液製剤へのSLP導入の検討開始に係る事務連絡に基づき、優先7品目とその関連製剤の承認販売申請書の写しが感染研に提出され、感染研ワーキンググループにおいて、承認書の内容を確認し、記載内容に基づいたSLP様式作成を開始した。

[野島清子、大隈和、松岡佐保子、楠英樹、水上拓郎、落合雅樹、内藤誠之郎、藤田賢太郎、倉光球、手塚健太、濱口功]

2) 血液製剤のための国内標準品の力価のモニタリング

血液製剤の力価を国際規格で管理するために、血液凝固第VIII因子、第IX因子、アンチトロンビンIIIについ

ては国内標準品が制定され、感染研で管理されている。これらの標準品の力価について WHO 国際標準品 (NIBSC) を指標にし、定期的に力価を測定して確認している。それぞれの国内標準品を独立 3 回測定し、制定時の力価が安定して保たれていることを確認した。[倉光球、大隈和、濱口功]

3) ヒスタミン加人免疫グロブリン (乾燥) 製剤の新規ヒスタミン含量試験法の確立に関する研究

ヒスタミン加人免疫グロブリン (乾燥) 製剤中のヒスタミン量を液体クロマトグラフ法 (HPLC/UPLC) により定量する新たな試験法を、メーカーとの共同研究により確立し、分析法バリデーション報告書を作成した。また確立した方法について論文を投稿した。今後、内標準品の選定、および本試験法で最も煩雑なヒスタミン抽出法の改良を検討する。[谷生道一、楠英樹、濱口功]

4) 人ハプトグロビン製剤のヘモグロビン含量試験におけるノンシアン法の検討

人ハプトグロビン製剤のヘモグロビン含量試験は、毒物であるシアン化カリウムを用いたシアンメトヘモグロビン法で実施されている。本研究では、毒物を使用しないノンシアン法の一つであるラウリル硫酸ナトリウム法 (SLS 法) による、当該製剤のヘモグロビン含量試験を検討した。その結果、SLS 法は当該製剤のヘモグロビン含量試験として有用であることが示唆された。[楠英樹、濱口功]

2. ワクチン製剤

1) 帯状疱疹ワクチン (ジャパンワクチン株式会社)

(1) たん白質含量試験、MPL 含量試験 (HPLC)、QS-21 含量試験、含湿度試験の実施

当該製剤について、たん白質含量試験、MPL 含量試験 (HPLC)、QS-21 含量試験、含湿度試験を実施した。[楠英樹、谷生道一、日吉真照、濱口功]

(2) 異常毒性否定試験の実施

承認前試験としての当該製剤の異常毒性否定試験を生物基の一般試験法に従って実施した。提出された全 3 ロットを用いて母集団を作成し、判定評価用として試験に用いた。その結果、試験成績においては、提出された全ロットにおいて基準を満たしていた。[佐々木永太、水上拓郎、古畑啓子、高井麻海子、濱口功]

2) 乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン (破傷風トキソイド結合体) における異常毒性否定試験の省略に関する検討

本試験に関しては、既に「組換え沈降 B 型肝炎ワクチン」において 20 回の連続した合格の後には省略できる「省略規定」を設定し、生物学的製剤基準を改正してきた。本年度は、乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン (破傷風トキソイド結合体) について検討し、50 回の「省略規定」が業務運営委員会、及び検定協議会において承認された。現在、生物学的製剤基準改正にむけて調整中である。

[佐々木永太、水上拓郎、佐々木裕子 (細菌第二)、見理剛 (細菌第二)、柴山恵吾 (細菌第二)、濱口功]

3. 体外診断薬用医薬品

1) B 型肝炎ウイルス表面抗原キットの承認前試験

当該体外診断薬用医薬品 2 キットにつき、正確性試験、同時再現性試験、ロット間差試験、および既承認品との比較試験を実施した。[百瀬暖佳、松岡佐保子、濱口功]

III. ワクチン開発および評価法開発に関する研究

1) インフルエンザワクチンの *in vitro* 安全性評価法構築へ向けた試み

インフルエンザワクチンの *in vitro* 安全性評価系の構築を目的として、これまでに我々が動物実験で同定したマーカー遺伝子を指標に、複数の肺由来細胞株を用いた検討を行った。その結果、不活化全粒子型ワクチン、および Alum アジュバント添加 HA ワクチンに対して濃度依存的なマーカー遺伝子の発現亢進を認める細胞株が見出された。また、マーカー遺伝子の変動に相関したケモカイン産生も認められ、安全性評価の新たな指標となる可能性が示唆された。[百瀬暖佳、佐々木永太、平舘祐希、水上拓郎、濱口功]

2) ワクチンの有効性・安全性評価系の開発へ向けた NMR メタボロミクス解析

ワクチンの有効性・安全性評価系の開発を目指し、NMR メタボロミクス解析を検討した。本研究では、全粒子不活化ワクチン、インフルエンザ HA 蛋白質、生理食塩水をそれぞれマウス腹腔に接種し 16 時間後にマウス尿を採取しサンプルとした。その結果、全粒子不活化ワクチン接種のマウス尿に特有代謝物が存在することが確認された。現在、得られた代謝物が、ワクチンの有効性・安全性評価の良いバイオマーカーとなり得るかを検討している。

[楠英樹、佐々木永太、百瀬暖佳、水上拓郎、濱口功]

3) カニクイザルでの結核ブースターワクチンの評価

無処置群、BCG 接種群および BCG+ブースターワクチン接種群について 2 頭ずつ用い比較した。結核菌感染前に末梢血単核球を採取し、精製ツベルクリンまたは抗原で刺激し、インターフェロン γ 産生細胞数を ELISPOT 法により調べた結果、無処置群に比べ、BCG 接種群、さらにブースターワクチン接種群がより多いことが分かった。一方、感染 3 ヶ月後に剖検したが、他の菌の汚染のため正確な残存菌数が得られなかった。[前山順一、山崎利雄（パイオセーフティ管理室）、林大介、山本十糸子、山本三郎、岡林佐知、向井徹（ハンセン病研究センター）、網康至（動物管理室）]

4) マウスを用いた結核ブースターワクチンの免疫条件の検討

DBA/2 マウスにおいて、無処置群と BCG 投与群の間に結核菌感染後の残存菌数に有意差が認められたので、これを指標にこのマウスを用いて免疫条件の検討を行うこととなった。無処置群、BCG 単独投与群および BCG+ブースターワクチン接種群について感染実験を行ったところ、BCG 単独投与群に比べ BCG+ブースターワクチン接種群で残存結核菌数の有意な低下が認められた。[前山順一、山崎利雄（パイオセーフティ管理室）、林大介、山本十糸子、山本三郎（ハンセン病研究センター）、網康至（動物管理室）]

5) 粘膜免疫誘導型インフルエンザワクチンに用いる経鼻アジュバント (G9.1) の有効性と安全性に関する研究

新規アジュバント CpG-ODN G9.1 の有効性と安全性を評価するために、特にマウス骨髄細胞を用いた *in vitro* でのインターフェロン α 産生誘導活性から、活性の安定性を引き続き検討した。まずいくつかのアミノ酸、タンパク質存在下での活性について検討した。人血清アルブミンでは、十分ではなかったが、G9.1 単独と比べ 10% 仔ウシ血清、数種のアミノ酸およびワクチン抗原を添加した場合、ほぼ活性が保持されていることが分かった。[前山順一、浅沼秀樹（インフルエンザウイルス研究センター）]

6) 網羅的遺伝子発現解析による革新的アジュバント安全評価法の開発

これまでにアジュバントに関し、その安全性の指標

となるバイオマーカーを網羅的に収集する目的で、平成 24 年度よりアジュバントデータベースの作成を行っている。平成 29 年度は市販されているアジュバント約 15 個について、評価を実施した。その結果、本評価系ではバイオマーカー固有の機能を考慮し、活性評価を行うことで、特に 1 型 IFN 誘導型アジュバントの活性ならびに damage-associated molecular patterns 誘導型アジュバントの特徴的な生物活性を捉えられることが明らかとなった。この結果を応用し、各バイオマーカー遺伝子の機能を評価結果に導入したところ、各アジュバントの作用機序やその特徴を反映した評価結果が得られた。

[佐々木永太、百瀬暖佳、平舘裕希、浅沼秀樹（インフルエンザウイルス研究センター）、水上拓郎、濱口功]

7) 末梢血ヒト化マウスならびに PBMC 培養系を用いたワクチン安全性評価の検討

インフルエンザワクチンの安全性指標バイオマーカー遺伝子による評価がヒトに外挿可能か検討するため、PBMC やヒト化マウスを用いた検討を実施した。平成 29 年度ではヒト PBMC を用いたアジュバント評価において形質細胞様樹状細胞が重要であることを明らかにした。さらに、ヒト形質細胞様樹状細胞が肺において一時的に定着する新規ヒト化マウスモデルを作成し、ワクチンによる急性毒性反応を評価する *in vivo* モデルの構築に成功した。そのモデルを用いてバイオマーカーの機能解析を実施したところ、従来の PBMC 移植モデルでは検出できなかったヒトバイオマーカー遺伝子の発現変動やヒトサイトカインの分泌が認められ、ヒトへの外挿性の高いツールとしての応用が期待された。[佐々木永太、百瀬暖佳、平舘裕希、水上拓郎、濱口功]

8) 経鼻インフルエンザワクチンにおける IL-33 の機能解析

IL-33 は 2 型自然リンパ球 (ILC2) の活性化を介して Th2 細胞免疫を誘導し、IgE 等の抗体産生等に寄与することが知られている。インフルエンザワクチン接種後の肺胞洗浄液 (BALF) 中の IL-33 濃度を解析したところ、無処置のマウスやスプリットワクチン接種マウスでは IL-33 は検出されなかったが、WV 接種マウスにおいては高い IL-33 濃度が認められた。この時の肺胞洗浄液中の lactate dehydrogenase (LDH) 濃度は概ね IL-33 濃度と相関を示していた。また、IL-33 分泌に伴う ILC2 の活性化 (IL-5 および IL-13 産生) は認められた。現在、抗体産生に関わる詳細なメカニズムの解明を進めている。

[佐々木永太、百瀬暖佳、水上拓郎、審良静男(大阪大学微生物病研究所 自然免疫学分野)、濱口功]

9) インフルエンザワクチン接種時の肺における形質細胞様樹状細胞の動態とその役割についての解析

これまでに全粒子不活化インフルエンザワクチンや、1型 IFN 誘導型アジュバントをマウスに腹腔内投与あるいは筋肉内投与することで、肺に形質細胞様樹状細胞 (pDC) が集簇することを明らかにしている。本年度は、マウスにおいて pDC を枯渇させる 120G8 モノクローナル抗体 (120G8 Ab) を用いて、pDC 枯渇時の肺への影響を解析した。その結果、全粒子不活化ワクチン接種による肺の自然免疫関連遺伝子の発現レベルが 120G8 Ab 投与によって抑制され、血中 IFN α/β 濃度の上昇も顕著に低下した。さらに、120G8 Ab 投与により、インフルエンザ HA 抗原特異的 IgA および IgG 抗体産生誘導が顕著に低下した。

[佐々木永太、百瀬暖佳、浅沼秀樹 (インフルエンザウイルス研究センター)、水上拓郎、濱口功]

10) 既承認薬・添加剤を用いた新規アジュバントスクリーニング法による有効性・安全性の高い細胞性免疫誘導型アジュバントの開発

我々が同定したインフルエンザワクチンの安全性評価に有効なバイオマーカー (BMs) を用い、アジュバント活性の定量化が可能か検討し、種々の細胞株等及びマウスモデルを用いたスクリーニング体制を構築した。既承認薬・添加剤の中より抽出した化合物を用いて BMs の発現を検証した結果、いくつかの化合物は BMs の発現上昇が認められた。これらの化合物にアジュバント活性があるか検証中である。

[佐々木永太、百瀬暖佳、楠英樹、浅沼秀樹 (インフルエンザウイルス研究センター)、水上拓郎、濱口功]

IV. 血液に関する研究

1) 抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリン製剤の開発に関する研究

日本赤十字社と協力し、抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンに感染予防効果があることを、*in vitro* 及びヒト化マウスを用いた *in vivo* 試験によって明らかにした。また製剤の安全性について評価し、当該製剤の製造過程でウイルスが完全に除去・不活化され、最終製品においても感染性は認められないことが明らかとなった。現在、京都大学の霊長類研究所と共同で、ニホンザル STLV-1 感染における有効性を検証するための疫学調

査、投与実験に関する背景データを取得している。

[野島清子、明里宏文(京大ウイルス研・霊長類研)、大隈和、内丸薫(東大新領域)、水上拓郎、濱口功]

2) ニホンザル STLV-1 の生殖器官における感染動態の解明

京大霊長研で管理飼育されている高齢キャリア雌ニホンザルの卵巣、膈、子宮をはじめとする生殖器官の PVL を測定し、ウイルス感染細胞の動態を検討した。それぞれ STLV-1 ウイルスゲノムや mRNA が検出されたことから、生殖器官においても感染細胞が存在する可能性を明らかにした。現在、*in situ* Hybridization プローブを作成し、感染細胞の局在を明らかにすることを検討している。

[平館裕希、水上拓郎、手塚健太、佐々木永太、野島清子、安永純一郎 (京都大ウイルス研)、松岡雅雄 (熊本大)、蔵田潔 (弘前大)、大隈和、明里宏文 (京都大霊長研)、濱口功]

3) ATL モデルマウスである HBZ トランスジェニックマウスにおける ATL 癌幹細胞微小環境の解析

HTLV-1 HBZ 遺伝子組換えマウス (HBZ-Tg) において、*in vitro* で高い増殖活性を持ち、*in vivo* の移植モデルで ATL 病態を再現できる ATL 癌幹細胞を同定した。ATL 癌幹細胞の微小環境を組織学的・生化学的に解析し、微小環境中のサイトカイン動態を明らかにし、幹細胞性を維持するのに必須のサイトカインを同定することに成功するとともに、幹細胞培養系を構築した。

[水上拓郎、栗林和華子、松岡雅雄 (熊本大)、濱口功]

4) 成人 T 細胞白血病・リンパ腫 (ATL) 及び B 細胞性リンパ腫発症リスク評価・判定法の開発

成人 T 細胞白血病・リンパ腫 (ATL) 発症の要因は HTLV-1 感染であるが、ATL 細胞では 5'側欠失を伴う HTLV-1 (変異型 HTLV-1) が高頻度に認められる。この変異型 HTLV-1 の ATL 発症への関与について検討を行った結果、過去の報告と同様に、約 30% の慢性型と約 50% の急性型において 5'側欠失を伴う変異 HTLV-1 の存在が認められた。また ATL に認められるこれらの変異型 HTLV-1 のほとんどの 5'側欠失が HBZ の 3'非翻訳領域までおよぶことが明らかとなった。興味深いことに、変異型 HTLV-1 では、HBZ の発現が亢進することを見出した。

[斎藤益満、日吉真照、谷生道一、百瀬暖佳、倉光球、濱口功、松橋一彦 (昭和大学)、伊波英克 (大分大学)、

緒方正男（大分大学）、長谷川寛雄（長崎大学）、今泉芳孝（長崎大学）、渡邊俊樹（東京大学）、山岸誠（東京大学）、森下和広（宮崎大学）]

V. 国家検定、収去試験、抜き取り検査、依頼試験、承認前検査等の実績

1. 国家検定

血液製剤力価試験：151 試験
（血液凝固第Ⅷ因子力価試験：34、アンチトロンビンⅢ力価試験：21、活性化血液凝固第Ⅶ因子力価試験：1、血液凝固第Ⅹ因子力価試験（APTT法）：1、血液凝固第Ⅱ因子力価試験：16、血液凝固第Ⅶ因子力価試験：16、血液凝固第Ⅸ因子力価試験：16、血液凝固第Ⅹ因子力価試験（PT法）：16、プロテインC力価試験：16、抗HBs人免疫グロブリン力価試験：1、乾燥抗HBs人免疫グロブリン力価試験：3、ポリエチレングリコール抗HBs人免疫グロブリン力価試験：2、乾燥抗D人免疫グロブリン力価試験：1、ハプトグロビン力価試験：7ロット）

免疫グロブリンG重合体否定試験：133ロット

抗補体性否定試験：47ロット

含湿度試験：142ロット

ホルムアルデヒド含量試験：33ロット

たん白質含量試験（ローリー法）：115ロット

たん白窒素含量試験：5ロット

凝固性たん白質含量及び純度試験：5ロット

アルミニウム含量試験（ICP）：8ロット

フェノール含量試験：11ロット

ヘモグロビン含量試験：7ロット

クエン酸ナトリウム含量試験：5ロット

MPL含量試験：1ロット

異常毒性否定試験：214ロット

発熱試験：27ロット

2. 収去試験

抗A血液型判定用抗体：3ロット

抗B血液型判定用抗体：3ロット

抗D血液型判定用抗体：5ロット

抗ヒトグロブリン抗体（多特異性抗体）：2ロット

乾燥抗D人免疫グロブリン：1ロット

3. 抜き取り検査

血液凝固第Ⅸ因子力価試験：4ロット

活性化凝固因子否定試験：4ロット

たん白窒素含量試験：4ロット

含湿度試験：2ロット

pH試験：2ロット

ヒスタミン含量試験：2ロット

4. 依頼検査

たん白質含量試験（ローリー法）：4ロット

5. 承認前検査

たん白含量試験：3サンプル

含湿度試験：3サンプル

MPL含量試験（HPLC）：3サンプル

QS-21含量試験：3サンプル

異常毒性否定試験：3サンプル

6. 行政検査

異常毒性否定試験：1ロット

7. 総合判定

（国家検定項目）

乾燥人フィブリノゲン：5ロット

乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子：34ロット

乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ：21ロット

乾燥濃縮人血液凝固第Ⅹ因子加活性化第Ⅶ因子：1ロット

乾燥濃縮人プロトロンビン複合体：16ロット

筋注用人免疫グロブリン：5ロット

乾燥イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン：2ロット

乾燥スルホ化人免疫グロブリン：47ロット

pH4処理酸性人免疫グロブリン：22ロット

乾燥pH4処理人免疫グロブリン：7ロット

PEG処理人免疫グロブリン：34ロット

乾燥PEG処理人免疫グロブリン：54ロット

乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン：1ロット

pH4処理酸性人免疫グロブリン（皮下注射）：11ロット

乾燥抗破傷風人免疫グロブリン：1ロット

抗破傷風人免疫グロブリン：1ロット

PEG処理抗破傷風人免疫グロブリン：1ロット

抗HBs人免疫グロブリン：1ロット

乾燥抗HBs人免疫グロブリン：3ロット

ポリエチレングリコール抗HBs人免疫グロブリン：2ロット

乾燥抗D人免疫グロブリン：1ロット

人血清アルブミン：170ロット

加熱人血漿たん白：5ロット

人ハプトグロビン：7ロット

(抜き取り検査項目)

血液凝固第 IX 因子製剤 (複合体を含む) : 4 ロット
ヒスタミン加人免疫グロブリン : 2 ロット

(収去試験項目)

抗 A 血液型判定用抗体 : 3 ロット
抗 B 血液型判定用抗体 : 3 ロット
抗 D 血液型判定用抗体 : 5 ロット
抗ヒトグロブリン抗体 (多特異性抗体) : 2 ロット
乾燥抗 D 人免疫グロブリン : 1 ロット

8. 体外診断用医薬品の承認前検査

1) B型肝炎ウイルス表面抗原キット : 2 キット (6 ロット)

国際協力関係業務

1) 2017年5月7日～5月10日 : 北京で開催された第3回ワクチン研究と品質管理に関するシンポジウム (3rd Symposium on Research and Quality Control of Vaccines) に参加し、「Safety Research on Vaccine」について発表するとともに情報の交換を行った。

[濱口功]

2) 2017年8月21日～8月24日 : WHO (ジュネーブ) で開催された Global Benchmarking Tool review に参加し、アセスメント・クライテリアとワクチン行政のために WHO で既に制定されているアセスメント・ツールの連携について議論した。

[濱口功]

3) 2017年10月15日～10月21日 : WHO (ジュネーブ) で開催された生物学的製剤の標準化に関する WHO 専門家会議出席し、血液製剤・ワクチン等の標準化および関連したガイドラインの承認などについて議論した。

[濱口功]

研修業務

1) 2017年6月6日 : 新規者向け検定・検査教育講習会において、「血液製剤の検定」の講義を行った。

[大隈和]

2) 2017年6月13日 : 知の市場前期講義において、「ヒト T細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1)」の講義を行った。

[大隈和]

3) 2017年10月6日 : 継続者向け検定・検査教育講習会「ECBS2017勉強会」において、講義を行った。

[濱口功]

4) 2018年1月18日 : JICA研修「ワクチン品質・安全性確保のための NRA 機能強化」コースで、物理化学試験の講義を担当した。

[楠英樹]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

1) Kuramitsu M, Sekizuka T, Yamochi T, Firouzi S, Sato T, Umeki K, Sasaki D, Hasegawa H, Kubota R, Sobata R, Matsumoto C, Kaneko N, Momose H, Araki K, Saito M, Nosaka K, Utsunomiya A, Koh KR, Ogata M, Uchimaruk K, Iwanaga M, Sagara Y, Yamano Y, Okayama A, Miura K, Satake M, Saito S, Itabashi K, Yamaguchi K, Kuroda M, Watanabe T, Okuma K, Hamaguchi I. 2017. Proviral Features of Human T Cell Leukemia Virus Type 1 in Carriers with Indeterminate Western Blot Analysis Results. *J Clin Microbiol*, 2017. 55:2838-2849.

2) Okuma K, Fukagawa K, Kohma T, Takahama Y, Hamaguchi Y, Ito M, Tanaka Y, Buonocore L, Rose JK, Hamaguchi I, A recombinant vesicular stomatitis virus encoding CCR5-tropic HIV-1 receptors targets HIV-1-infected cells and controls HIV-1 infection. *Microbes Infect*, 2017. 19(4-5):277-287.

3) Sasaki E, Momose H, Kuramitsu M, Hiradate Y, Furuhata K, Takai M, Kamachi K, Asanuma H, Ishii KJ, Mizukami T, Hamaguchi I, Evaluation of marker gene expression as a potential predictive marker of leukopenic toxicity for inactivated influenza vaccine *Biologicals*. 2017. 50:100-108.

4) Nakatsu N, Igarashi Y, Aoshi T, Hamaguchi I, Saito M, Mizukami T, Ishii K-J, Yamada H, Isoflurane is a suitable alternative to ether for anesthetizing rats prior to euthanasia for gene expression analysis, *J. Toxicol. Sci.* 2017. 42(4):491-497. doi: 10.2131/jts.42.491.

5) Mead AJ, Neo WH, Barkas N, Matsuoka S, Giustacchini A, Facchini R, Thongjuea S, Jamieson L, Booth CAG, Fordham N, Di Genua C, Atkinson D, Chowdhury O, Repapi E, Gray N, Kharazi S, Clark SA, Bouriez T, Woll P, Suda T, Nerlov C, Jacobsen SEW. Niche-mediated depletion of the normal hematopoietic stem cell reservoir by Flt3-ITD-induced myeloproliferation. *J Exp Med*.

2017; 214(7): 2005-2021.

6) Ikebe E, Fife-Koshinomi N, Matsumoto T, Yahiro T, Ikebe T, Iha H. Antiobesity and Anti-Inflammatory Effects of Orally Administered Bonito Extracts on Mice Fed a High-Fat Diet. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017; 2017:9187167.

7) Mori D, Khanam W, Sheikh RA, Tabib SMSB, Ikebe E, Hossain MM, Iha H, Ahmed K. Increased serum vascular endothelial growth factor is associated with acute viral encephalitis in Bangladeshi children. *Sci Rep*, 2017; 7(1):16181.

8) Tezuka K, Okuma K, Kuramitsu M, Matsuoka S, Tanaka R, Tanaka Y, Hamaguchi I, Control of HTLV-1 Infection by Eliminating Envelope Protein-Positive Cells with Recombinant Vesicular Stomatitis Viruses Encoding HTLV-1 Primary Receptor. *J Virol*, 2018 . 92(4). pii: e01885-17.

9) Kusunoki H, Tanaka T, Kohno T, Matsuhashi K, Hosoda K, Wakamatsu K, Hamaguchi I. A novel neuropilin-1 -binding sequence in the human T-cell lymphotropic virus type 1 envelope glycoprotein, *BBA*, 2018, 1866, 541-548.

10) Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Ishii KJ, Mizukami T, Hamaguchi I. In vitro marker gene expression analyses in human peripheral blood mononuclear cells: A tool to assess safety of influenza vaccines in humans. *J Immunotoxicol*, 2018;15(1):53-62.

11) Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Furuhata K, Takai M, Asanuma H, Ishii KJ, Mizukami T, Hamaguchi I. Modeling for influenza vaccines and adjuvants profile for safety prediction system using gene expression profiling and statistical tools. *PLoS One*. 2018;13(2): e0191896.

12) Sasaki E, Yokoi T. Role of cytochrome P450-mediated metabolism and involvement of reactive metabolite formations on antiepileptic drug-induced liver injuries. *J Toxicol sci*. 2018;43(2):75-87.

13) Momose H, Matsuoka S, Murayama A, Yamada N, Okuma K, Ikebe E, Hoshi Y, Muramatsu M, Wakita T, Toyoda K, Kato T, Hamaguchi I, Evaluation of In Vitro Screening and Diagnostic Kits for Hepatitis C Virus Infection. *J Clinic Virol*. In press.

14) Hiradate Y, Sasaki E, Momose H, Asanuma H, Furuhata K, Takai M, Aoshi T, Yamada H, Ishii K,

Mizukami T, Hamaguchi I, Development of screening method for intranasal influenza vaccine and adjuvant safety in preclinical study. *Biologicals*. In press.

15) Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Furuhata K, Mizukami T, Hamaguchi I. Development of a preclinical humanized mouse model to evaluate acute toxicity of an influenza vaccine. *Oncotarget*, In press.

16) Toki T, Yoshida K, Wang R, Nakamura S, Maekawa T, Goi K, Katoh MC, Mizuno S, Sugiyama F, Kanezaki R, Uechi T, Nakajima Y, Sato Y, Okuno Y, Sato-Otsubo A, Shiozawa Y, Kataoka K, Shiraishi Y, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Terui K, Sato T, Kamio T, Sakaguchi H, Ohga S, Kuramitsu M, Hamaguchi I, Ohara A, Kanno H, Miyano S, Kojima S, Ishiguro A, Sugita K, Kenmochi N, Takahashi S, Eto K, Ogawa S, Ito E. De novo mutations activating germline *TP53* in an inherited bone marrow failure syndrome. *Am J Hum Genet*. In press.

17) Fukumoto T, Ikebe E, Ogata M, Kohno K, Kuramitsu M, Sato Y, Fife N, Matsumoto T, Yahiro T, Ikeda M, Kusano S, Okayama A, Hori M, Hijiya N, Tsukamoto Y, Hirashita Y, Moriyama M, Ahmed K, Hasegawa H, Nishizono A, Saito M, Iha H. Complete Sequences of the Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 Proviral Genomes from Newly Established Adult T-Cell Leukemia Cell Lines in Oita Prefecture, Japan. *Genome Announc*. In press.

2. 和文発表

1) 倉光球, 大隈和, 落合雅樹, 中村徹, 遠藤章, 阿武啓嗣, 菅原理明, 渡邊嘉治, 小西久郎, 内田早苗, 瀧口功. 活動報告 血液凝固第VIII因子および血液凝固第IX因子国内標準品の力価測定: 多施設共同研究. 日本輸血細胞治療学会誌 2018; 64: 79-83.

2) 瀧口功, 佐々木永太, 水上拓郎. ワクチンの安全性試験の理論的構築 -「医学のあゆみ 近未来のワクチン-開発研究の潮流と課題」. 医歯薬出版株式会社, 2018, 264巻, 5号, p477-483.

3) 松岡佐保子, 水澤左衛子, 落合雅樹, 草川茂, 百瀬暖佳, 池辺詠美, 宮川恵子, 五反田裕子, 長谷川隆, 富樫謙一, 中里見哲也, 塚原美由紀, 前田豊, 福田修久, 古田美玲, 内田恵理子, 川村利江子, 岡田義昭, 山口照英, 瀧口功, 血液製剤の安全性確保のためのウイルス核酸増幅検査 (NAT) 国内標準品の再評価、日本

輸血細胞治療学会誌、印刷中

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Mizukami T, Nojima K, Sobata R, Kuribayashi W, Matsumoto C, Sato Y, Sasaki E, Hiradate Y, Matsuoka S, Okuma K, Satake M, Hamaguchi I. Development of HTLV-1 hyperimmune globulins against HTLV-1 infection using humanized mouse model. 22nd EHA congress、スペイン、マドリッド、2017年6月
- 2) Asanuma H, Tateishi K, Hasegawa H, Yamamoto N, Kayoko Sato, Maeyama J-I, Iho S, Yamamoto S, Odagiri T, Fujihashi K. Enhancement of protective mucosal immunity against influenza virus infection by a combination of Influenza antigen plus G9.1 (CpG ODN) as nasal adjuvant, International Congress on Mucosal Immunology 2017、米国、ワシントン DC、2017年7月
- 3) Mizukami T, Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Furuhata K, Kusunoki H, Asanuma H, Yamada H, Ishii KJ, Hamaguchi I. Systems biology approach for evaluating vaccine and adjuvant safety during preclinical and lot release testing. EUROtox 2017、スロバキア、ブラチスラバ、2017年9月
- 4) Nojima K. Standardization of the anti-complementary activity of IVIG in Japan. The 2nd Meeting of National Control Laboratories for Vaccines and Biologicals in the Western Pacific、大韓民国、ソウル、2017年9月
- 5) Nojima K. Collaborative study on testing for freedom from aggregated immunoglobulinG. The 2nd Meeting of National Control Laboratories for Vaccines and Biologicals in the Western Pacific、大韓民国、ソウル、2017年9月
- 6) Matsuoka S, Ishizaka H, Tanaka A, Yonemura Y, Fujii Y, Ohsaka A, Okazaki H, Taira R, Toyoda K, Kitazawa J, Ohtani S, Kato H, Kino S, Hamaguchi I, Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy Task Force on Hospital Information System. A Pilot Study of Japanese Hemovigilance to Trace Entire Transfusion Chain. 2017 AABB Annual Meeting、米国、サンディエゴ、2017年10月
- 7) Mizukami T, Sasaki E, Momose H, Hiradate Y, Furuhata K, Kusunoki H, Asanuma H, Yamada H, Ishii KJ, Hamaguchi I. Application of Systems Biology approaches for evaluating the vaccine and adjuvant

- safety at the preclinical and lot release test. ISV Congress 2017、フランス、パリ、2017年10月
- 8) Maeyama J-I, Suzuki F, Ozeki Y, Asanuma H, Sohkiichi M, Iho S, Yamamoto S, Study of a novel CpG oligodeoxynucleotide to promote vaccine ability against TB or Flu, the 2017 International Society for Vaccines Congress 2017、フランス、パリ、2017年10月
 - 9) Murayama A, Yamada N, Momose H, Matsuoka S, Hamaguchi I, Toyota K, Wakita T, Kato T. Evaluation of in vitro diagnostic kits for detection and quantification of HBV DNA and HBsAg using HBV reference panel. The Liver Meeting 2017, AASLD's Annual Meeting, 米国、ワシントン DC、2017年10月
 - 10) Hayashi D, Maeyama J-I, Yamamoto T, Yamazaki T, Mukai T, Tamura T, Okabayashi S, Suzuki F, Ozeki Y, Yokoyama A, Suzaki Y, Ami Y, Goto Y, Iho S, Matsumoto S, Yamamoto S, The effects of the booster vaccine composed of MDP1 and G9.1 against tuberculosis in cynomolgus monkeys, The U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 52nd Mycobacteria Panel Meeting、新潟、2018年3月
 - 11) Maeyama J-I, Hayashi D, Yamamoto T, Yamazaki T, Suzuki F, Ozeki Y, Matsumoto S, Iho S, Yamamoto S, Phosphodiester-linked new oligodeoxynucleotide promotes vaccine ability to tuberculosis, The U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program, 52nd Mycobacteria Panel Meeting、新潟、2018年3月

2. 国内学会

- 1) 齋藤益満、成人T細胞白血病・リンパ腫発症リスク評価・判定法の開発. 東京バイオマーカー・イノベーション技術研究組合 TOBIRA第6回研究交流フォーラム、東京、2017年5月
- 2) 百瀬暖佳, 加藤孝宣, 松岡佐保子, 大隈和, 池辺詠美, 山田典栄, 村山麻子, 豊田九朗, 脇田隆字, 濱口功. 国内で使用されているC型肝炎ウイルスの体外診断用医薬品を対象とした性能評価. 第65回日本輸血・細胞治療学会総会、千葉、2017年6月
- 3) 佐々木永太, 百瀬暖佳, 平舘裕希, 古畑啓子, 山田宏, 石井健, 水上拓郎, 濱口功. マーカー遺伝子と統計学的手法を用いた新規アジュバント安全性評価系の構築. 第44回日本毒性学会学術年会、神奈川、2017年7月
- 4) 水上拓郎, 佐々木永太, 百瀬暖佳, 平舘裕樹, 古

畑啓子, 山田弘, 石井健, 瀨口功. ヒト化マウスを用いたワクチン及びアジュバントの次世代安全性評価法の開発. 第 44 回日本毒性学会学術集会, 横浜, 2017 年 7 月

5) 手塚健太, 大隈和, 倉光球, 田中勇悦, 田中礼子, 瀨口功. HTLV-1 受容体をコードする組換え水疱性口内炎ウイルスを用いた HTLV-1 感染の制御. 第 4 回日本 HTLV-1 学会学術集会, 大阪, 2017 年 8 月

6) 大隈和, 倉光球, 池辺詠美, 丹羽敏博, 谷口友邦, 真崎夕美子, 渡邊恵子, 松本千恵子, 蕎麦田理英子, 相良康子, 板橋家頭夫, 佐竹正博, 三浦清徳, 淵直樹, 増崎英明, 瀨口功. 国内で使用されている, 確認検査用を含む HTLV-1 抗体検査キットに関する性能調査. 第 4 回日本 HTLV-1 学会学術集会, 大阪, 2017 年 8 月

7) 楠英樹, 田中俊之, 河野俊之, 松橋一彦, 森茂太郎, 細田和男, 若松馨, 瀨口功. HTLV-1 Env由来ペプチドとニューロピリン-1 b1ドメインの相互作用解析. 第4回HTLV-1学術集会、大阪、2017年8月

8) 平舘裕希, 水上拓郎, 関洋平, 村田めぐみ, 鷺崎彩夏, 手塚健太, 鈴木樹理, 兼子明久, 佐々木永太, 野島清子, 石上暁代, 安永純一朗, 蔵田潔, 松岡雅雄, 明里宏文, 瀨口功. 閉経期雌ニホンザルの生殖器官における S T L V - 1 感染動態の解析. 第 4 回日本 HTLV-1 学会, 大阪, 2017 年 8 月

9) 水上拓郎, 野島清子, 松本千恵子, 蕎麦田理英子, 平舘裕希, 村田めぐみ, 鷺崎彩夏, 関洋平, 森本真弓, 夏目尊好, 大隈和, 内丸薫, 佐竹正博, 明里宏文, 瀨口功. 臨床応用を目指した抗 HTLV-1 免疫グロブリン製剤の開発とニホンザル STLV-1 母子感染動態の解析. 第 4 回日本 HTLV-1 学会, 大阪, 2017 年 8 月

10) 斎藤益満, 伊波英克, 長谷川寛雄, 他 35 名, 成人 T 細胞白血病・リンパ腫患者における HTLV-1/EBV 共感染 B 細胞の存在意義. 第 4 回日本 HTLV-1 学会, 大阪, 2017 年 8 月

11) 松橋一彦, 斎藤益満, 他 19 名, 成人 T 細胞白血病・リンパ腫における HBZ 活性化- miR-324-3P による HBZ 発現抑制の崩壊 -. 第 4 回日本 HTLV-1 学会, 大阪, 2017 年 8 月

12) 佐々木永太, 百瀬暖佳, 平舘裕希, 古畑啓子, 水上拓郎, 瀨口功. ワクチン接種時の初期免疫反応を捉えるヒト化マウスモデルの作出ならびにワクチン安全性評価法への応用とその評価. 第 24 回日本免疫毒性学会学術年会, 青森, 2017 年 9 月

13) 平舘裕希, 水上拓郎, 関洋平, 村田めぐみ, 鷺崎彩夏, 手塚健太, 鈴木樹理, 兼子明久, 石上暁代, 安

永純一朗, 蔵田潔, 松岡雅雄, 明里宏文, 瀨口功. 閉経期雌ニホンザルの生殖器官における STLV-1 感染動態の解析, 第 160 回日本獣医学会学術集会, 鹿児島, 2017 年 9 月

14) Tezuka K, Okuma K, Hamaguchi I. Development of a novel high-sensitive nucleic acid testing method for quantifying VSV vector in vivo. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月

15) Okuma K, Tezuka K, Kuramitsu M, Tanaka Y, Tanaka R, Hamaguchi I. Oncolytic recombinant vesicular stomatitis viruses encoding HTLV-1 receptor control HTLV-1 infection *in vitro* and *in vivo*. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月

16) Nojima K, Shimoike T, Wakita T, Hamaguchi I, Okada Y. Analysis of HCV in the fractions with Cohn ethanol method in a laboratory scale. 第 65 回ウイルス学会, 大阪, 2017 年 10 月

17) Ikebe E, Matsuoka S, Muraoka H, Yoshimura C, Iha H, Hamaguchi I. NAE inhibitor TAS4464 induces NF- κ B pathway inactivation and apoptosis in HTLV-1 associated cells. 第 79 回日本血液学会学術集会、東京、2017 年 10 月

18) Mizukami T, Kuribayashi W, Nojima K, Hiradate Y, Sasaki E, Kuramitsu M, Momose H, Sugata K, Iwama A, Matsuoka M, Hamaguchi I. Characterization of the ATL stem cell (ATLSC) niche and cytokine environment in an ATL mouse model. 第 79 回日本血液学会, 東京, 2017 年 10 月

19) Mizukami T, Nojima K, Sobata R, Murata M, Kuribayashi W, Matsumoto C, Sato Y, Washizaki A, Sasaki E, Seki Y, Furuhata K, Morimoto M, Hiradate Y, Matsuoka S, Natsume T, Okuma K, Uchimaru K, Akari H, Satake M, Hamaguchi I. Development of HTLV-1 hyperimmune globulins against HTLV-1 infection. 第 79 回日本血液学会, 東京, 2017 年 10 月

20) 瀨口功, 日本における HTLV- I 感染の現状と対策の方針, 第 41 回日本血液事業学会総会, 福岡, 2017 年 11 月

21) 水上拓郎, 佐々木永太, 百瀬暖佳, 浅沼秀樹, 蒲地一成, 石井健, 瀨口功. ヒト PBMCs を用いたインフルエンザワクチンの *in vitro* 安全性評価法の開発とヒト化マウスによる *in vivo* モデルの構築. 第 21 回日本ワクチン学会学術集会, 福岡, 2017 年 12 月

22) 瀨口功. アジュバント含有ワクチンの新しい安全性評価法の開発. 第 21 回日本ワクチン学会学術集会, 福岡, 2017 年 12 月

23) 水上拓郎. Systems Vaccinology によるワクチン及びアジュバントの次世代安全性評価法の開発. 第21回日本ワクチン学会学術集会, 福岡, 2017年12月

24) 佐々木永太, 百瀬暖佳, 平舘裕希, 古畑啓子, 石井健, 水上拓郎, 濱口功. マーカー遺伝子を用いた探索的な in vivo アジュバント生物活性・安全性プロファイリング法の構築. 第21回日本ワクチン学会学術集会, 福岡, 2017年12月

25) 山本三郎, 林大介, 山本十糸子, 小山明, 前山順一, 網康至, 須崎百合子, 向井徹, 岡林佐知, 田村敏生, 山崎利雄, 松本壮吉, 尾関百合子, 伊保澄子, 後藤義孝, 新規結核菌抗原 MDP1 と CpG ODN G9.1 アジュバントからなる結核ブースターワクチンのカニクイザルに対する有効性の検討, 第21回日本ワクチン学会学術集会, 福岡, 2017年12月

26) 立石恒一郎, 山本典生, 佐藤佳代子, 長谷川秀樹, 前山順一, 伊保澄子, 山本三郎, 小田切孝人, 藤橋浩太郎, 浅沼秀樹, 2つの感染モデルを用いた CpG-ODN G9.1 添加経鼻インフルエンザワクチンの有効性, 第21回日本ワクチン学会学術集会, 福岡, 2017年12月

27) Asanuma H, Tateishi K, Sato K, Hasegawa H, Maeyama J-I, Iho S, Yamamoto S, Fujihashi K, Yamamoto N, Essential roles for protective SIgA Abs induced by nasal G9.1 combined influenza VLP vaccine, 第46回日本免疫学会学術集会, 仙台, 2017年12月

28) 佐々木永太. ワクチンアジュバントのハイスループットスクリーニング系構築を目指した培養細胞による in vitro 評価系の構築. 第11回次世代アジュバント研究会, 大阪, 2018年1月

29) Momose H, Sasaki E, Hiradate Y, Kusunoki H, Mizukami T, Hamaguchi I. An approach to establish an in vitro assay system for the safety control of influenza vaccines and adjuvants. 第11回次世代アジュバント研究会, 大阪, 2018年1月

30) 米村雄士, 岡崎仁, 池田敏之, 牧野茂義, 大坂顯通, 古川良尚, 安村敏, 田中朝志, 藤井康彦, 北澤淳一, 松岡佐保子. 貯血式自己血輸血による副作用の現状 ~10施設からの調査報告~, 第31回日本自己血輸血学会学術総会, 大阪, 2018年3月

31) 前山順一, 林大介, 山本十糸子, 向井徹, 岡林佐知, 田村敏生, 山崎利雄, 尾関百合子, 松本壮吉, 伊保澄子, 山本三郎, カニクイザルを用いた MDP1 と G9.1 からなる結核ブースターワクチン候補の有効性評価, 第91回日本細菌学会総会, 福岡, 2018年3月

成分制御センサータンパク質 SPY1588 は、バイオフィルム産生と mga プロモーター発現を促進させる. 第91回日本細菌学会総会, 福岡, 2018年3月

32) 井坂雅徳, 立野一郎, 前山順一, 長谷川忠男, 二